Bouillon Lactose-Sulfite (LS)

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon Lactose Sulfite (LS) est un milieu de confirmation permettant de détecter sélectivement la présence de formes végétatives ou de spores de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires et les prélèvements biologiques d'origine animale, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer les tests confirmatifs habituels.

HISTORIQUE

Utilisant les travaux antérieurs de Put (1961), relatifs à l'étude de la sensibilité des *Clostridium* au sulfite, la croissance optimale de *Clostridium perfringens* à 46°C ainsi que sa capacité à fermenter le lactose, Beerens *et al.*, en 1982, ont formulé et développé avec succès le milieu LS. Ils ont particulièrement recommandé son utilisation pour la détection des faibles quantités de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires fortement contaminés par d'autres bactéries sulfito-réductrices.

PRINCIPES

- La spécificité du milieu vis à vis de *Clostridium perfringens* est due principalement à la capacité de ce microorganisme à résister aux sulfites et à fermenter le lactose en produisant du gaz.
- La concentration en métabisulfite inhibe le développement de la plupart des clostridia autres que *Clostridium perfringens.*
- L'incubation à 46°C assure la culture spécifique de *Clostridium perfringens* qui réduit le métabisulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique, un précipité noir de sulfure de fer qui se dépose au fond du tube.

PREPARATION

- Mettre en solution 19,3 g de milieu déshydraté (BK140) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes contenant une cloche de Durham, à raison de 9 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTE :

Après refroidissement, les cloches de Durham ne doivent pas contenir d'air.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- A partir des colonies noires suspectes obtenues sur un milieu de dénombrement pour *Clostridium perfringens* (gélose TSC : BK031, BM039, BM077), ensemencer un bouillon au thioglycolate avec résazurine (BK017, BM082).
- Incuber les tubes en anaérobiose pendant 20 heures à 37°C.
- Ensemencer 5 gouttes de culture dans un tube de bouillon LS.
- Incuber à 46°C pendant 24 heures dans un bain d'eau thermostaté.

LECTURE

La fermentation du lactose, qui se traduit par l'apparition de gaz dans les cloches de Durham (volume au minimum égal au 1/4 du volume de la cloche) en 24 heures, ainsi que la présence simultanée d'un précipité noir de sulfure de fer dans les tubes, indiquent la présence de *Clostridium perfringens.*

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 4,44 g
- Extrait autolytique de levure ..... 2,22 g
- Chlorhydrate de cystéine ..... 0,27 g
- Lactose ..... 8,89 g
- Chlorure de sodium ..... 2,22 g
- Métabisulfite de sodium ..... 0,67 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 0,56 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé : solution ambrée, limpide.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 46°C (méthode qualitative) :

Microorganismes	Croissance (turbidité)	Production de gaz	Noircissement
Clostridium perfringens ATCC® 13124	bonne, score 2	positive	positif
Clostridium perfringens NCTC 8238	bonne, score 2	positive	positif
Clostridium bifermentans ATCC 19299	faible, score 1	négative	positif

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

STOCKAGE

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en tubes : utiliser le jour même de la préparation (à titre indicatif).

PRESENTATION

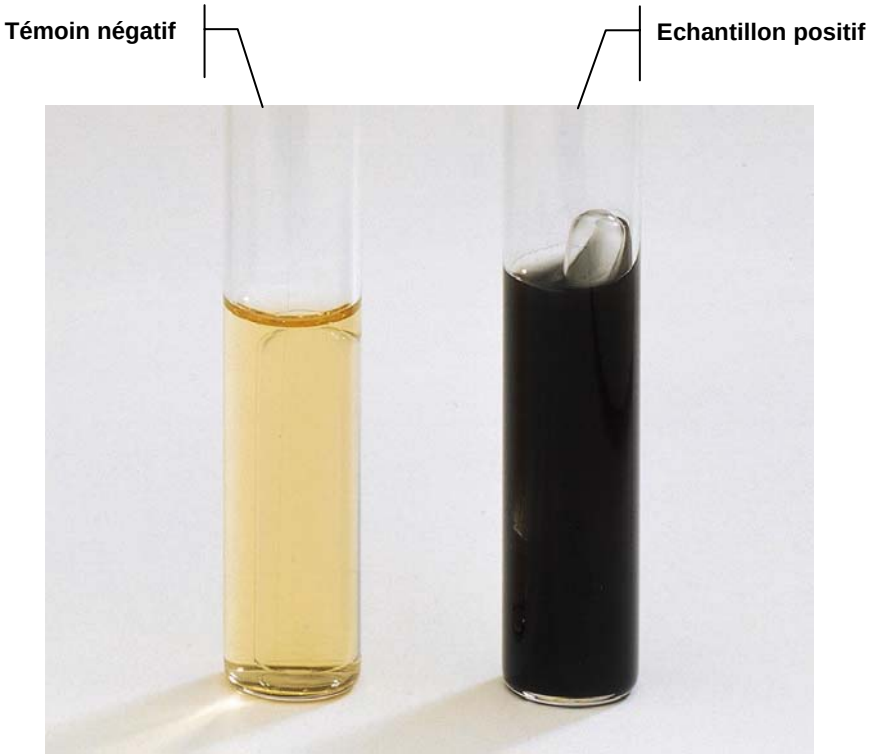
	Code
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK140HA

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

Référence : BK140HA

Domaine d'utilisation : Confirmation de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires.



Bouillon lactose-sulfite (LS)

Réf : BK140HA

Incubation 24 heures à 46°C

Caractéristiques : un noircissement dans les tubes positifs (un précipité de sulfure de fer) couplé avec une présence de gaz dans les cloches de Durham
(réduction du métabisulfite de sodium et fermentation du lactose)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beerens, H., Romond, C.H., Lepage, C., and Criquelion, J. 1982. A Liquid Medium for the Enumeration of *Clostridium perfringens* in Food and Faeces. Isolation and Identification Methods for Foods Poisoning Organisms. Edited by Academic Press London, 137-149.

NF V 59-107. Mars 1984. Gélatine alimentaire. Recherche des spores de *Clostridium perfringens*. Technique du nombre le plus probable après incubation à 46 °C.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 7937 (V 08-019). Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Technique par comptage des colonies.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-02-10.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK140/F/2004-01 : 5.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : +33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : +33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr